

РЕКОМБИНАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ НЕКОТОРЫХ
23-ХРОМОСОМНЫХ ВИДОВ САРАНЧОВЫХ¹

© 1994 г. А. М. Гусаченко, О. А. Агапова, Л. В. Высоцкая

Новосибирский государственный университет, кафедра цитологии и генетики, Новосибирск 630090

Поступила в редакцию 26.07.93 г.

Окончательный вариант получен 11.11.93 г.

У пяти видов саранчовых, имеющих 23 акроцентрические хромосомы и принадлежащих к разным таксономическим группам, цитологически изучены частоты и распределения рекомбинационных обменов по длине бивалентов в мейозе самцов. У двух видов проанализирован характер формирования синаптонемных комплексов (СК). Анализ этих параметров позволил выделить два типа распределения обменов и характера формирования СК в крупных и средних хромосомах: 1) хиазмы образуются преимущественно в дистальном и проксимальном районах хромосом. Формирование СК также начинается с двух концов бивалентов; 2) частота обменов увеличена только в дистальном районе хромосомы. Спаривание боковых элементов СК начинается с дистального района. Обсуждается зависимость типа распределения обменов от характера формирования СК. Отмечается сходство этих параметров у родственных видов и их различия у видов с одинаковым числом хромосом, но принадлежащих разным трибам.

Изучение процесса формирования синаптонемных комплексов (СК) в распластанных мейоцитах и регистрация положения хиазм в бивалентах позволяют визуализировать процессы конъюгации и рекомбинации хромосом и, следовательно, анализировать важнейшие хромосомные параметры. Такой подход дает возможность оценивать рекомбинационные свойства кариотипа в целом и может быть использован для сравнительно-эволюционных исследований.

Рекомбинационные характеристики некоторых видов саранчовых изучались ранее. При этом обнаружено, что систематически близкие виды характеризуются сходными значениями средней частоты хиазм [1]. Показано, что характер распределения обменов одинаков у родственных видов [2 - 5]. Установлено, что ограничение рекомбинации, наблюдаемое у ряда видов как "локализованные" хиазмы, обусловлено отсутствием конъюгации в определенных районах бивалентов [6 - 8].

В данной работе мы изучали распределения обменов и формирование синаптонемных комплексов в сперматогенезе у пяти 23-хромосомных видов саранчовых подсемейства *Acridinae*. Это подсемейство интересно тем, что в нем подавляющее число видов имеет 17-хромосомный кариотип ($2n\delta = 16 + X0$, $NF = 23$), который, по мнению ряда авторов, произошел от базового 23-хромосомного в результате центрических слияний шести пар крупных акроцентриков [9, 10]. Таким образом, 23-хромосомные представители подсемей-

ства, сохранившие предковое число хромосом и, вероятно, предковую рекомбинационную систему, вызывают особый интерес.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали виды саранчовых, принадлежащих к трем трибам: *Arcyptera fusca* (Pall.), *Pararcyptera microptera* (Zub.) (триба *Arcypterini*), *Dociostaurus brevicollis* (Ev.) (триба *Dociostaurini*), *Aeropedellus variegatus* (F. - W.), *Chorthippus schmidti* (Kopp.) (триба *Gomphocerini*). Взрослых самцов отлавливали в природных популяциях Алтая, Дальнего Востока, Средней Азии. Через 1 - 2 ч после инъекции 0.1%-ного раствора колхицина извлекали семенники, выдерживали в растворе 0.9%-ного цитрата натрия и фиксировали в этанол-уксусной смеси (3 : 1). Сухие давленные препараты, приготовленные по стандартной методике, окрашивали ацетоорсеином или С-дифференциально по методу Джонса [9] с модификациями. Локализацию хиазм и их подсчет проводили в бивалентах на стадии диакинеза. Биваленты визуально разбивали на 5 частей (мелкие на 3) и регистрировали в них наличие или отсутствие хиазм. У каждой особи исследовали 20 - 50 клеток, число особей приведено в таблице. Поскольку идентификация хромосом внутри группы, объединяющей хромосомы одинаковой длины, затруднена, то данные для бивалентов одной такой группы суммировали.

Препараты распластанных сперматоцитов для светомикроскопического анализа синаптонемных комплексов готовили и окрашивали по методу, описанному ранее [8]. Анализ СК проводили

¹ Исследование финансировалось ГНТП "Приоритетные направления генетики" и по гранту Министерства науки, высшей школы и технической политики России Б-41-4.

Частоты хиазм и длины синаптомемных комплексов

Вид	Число особей	Частота хиазм			Длина СК, мкм
		общая	σ	1 - 2 хромосомы	
<i>Ae. variegatus</i>	11	18.87 ± 0.10	1.18	2.71	732 ± 57
<i>Ch. schmidti</i>	9	18.63 ± 0.13	2.05	2.75	
<i>D. brevicollis</i>	9	17.12 ± 0.09	1.44	2.16	
<i>A. fusca</i>	10	20.56 ± 0.12	1.96	3.09	
<i>P. microptera</i>	2	17.54 ± 0.19	2.33	2.41	

на стадии зиготены и пахитены у двух видов *A. fusca* и *Ch. schmidti*. Для измерения длин СК использовали пахитенные клетки с полностью сформированным синаптомемным комплексом. В суммарную длину СК не включали длину осевого элемента полового унивалента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частоты хиазм и распределения рекомбинационных обменов

Частоты хиазм на клетку у исследованных видов приведены в таблице. Наблюдаемые частоты

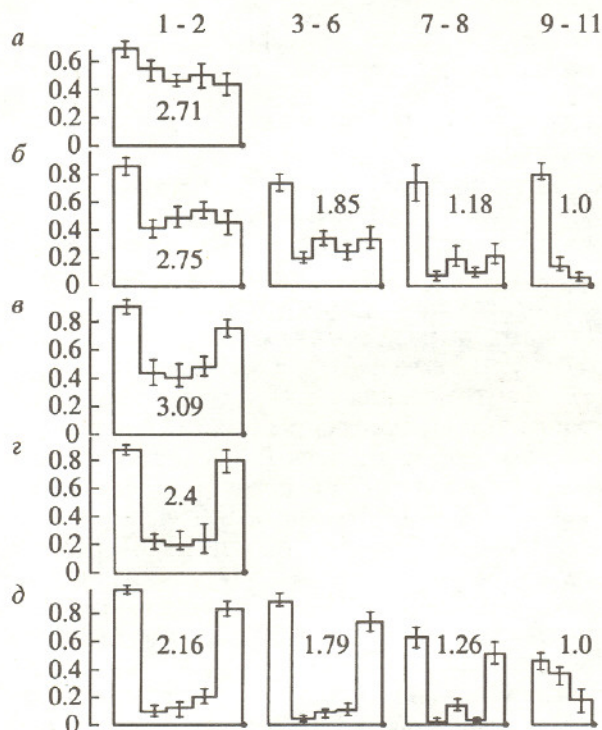


Рис. 1. Распределения хиазм в бивалентах у 23-хромосомных видов саранчовых: а - *Ae. variegatus*, б - *Ch. schmidti*, в - *A. fusca*, г - *P. microptera*, д - *D. brevicollis*. Отмечены номера хромосом и средние частоты хиазм. Указаны 95%-ные доверительные интервалы.

являются максимальными среди изученных видов саранчовых подсем. *Acridinae*. Для большинства представителей подсемейства характерны значения средней частоты около 16 и ниже [1].

Распределения обменов по длине хромосом представлены на рис. 1.

Три мелкие хромосомы (9 - 11) у всех видов всегда образуют одну хиазму на бивалент. Чаще всего она формируется в дистальном районе хромосом.

Характер распределения обменов в средних и крупных хромосомах одинаков в пределах одного набора и не зависит от рекомбинационной длины хромосомы. Среди изученных видов количество хромосом одной длины в группе одинаково только у *Ch. schmidti* и *D. brevicollis*, поэтому распределение обменов по всем хромосомам приведены только для этих видов, для остальных - распределение в бивалентах 1 - 2 (см. рис. 1).

По распределению хиазм в средних и крупных бивалентах изученные виды можно разделить на две группы. В первую группу входят *A. fusca*, *P. microptera* и *D. brevicollis*. У них наблюдается концентрация обменов как в проксимальном, так и в дистальном районе хромосом. Во второй группе видов, куда входят представители трибы *Gomphocerini* *Ch. schmidti* и *Ae. variegatus*, увеличенная частота обменов наблюдается только в дистальном районе хромосом. У *Ch. schmidti* этот пик выражен хорошо, тогда как у *Ae. variegatus* в хромосомах 1 - 2 мы видим почти равномерное распределение хиазм с тенденцией повышения частоты в дистальном районе. В средних хромосомах *Ae. variegatus* дистальный пик проявляется более отчетливо.

Синаптомемные комплексы

Мы провели анализ формирования СК у *A. fusca* и *Ch. schmidti* - представителей триб, характеризующихся различным распределением хиазм.

В ранней зиготене у *A. fusca* видны небольшие участки СК, образованные концевыми районами бивалентов, и далее - неспаренные осевые элементы хромосом. Количество и морфология сформированных фрагментов СК свидетельствуют о том, что СК образуется одновременно в проксимальных и дистальных районах бивалентов (рис. 2, а). В поздней зиготене в центральных частях крупных бивалентов можно видеть неспаренные осевые элементы хромосом (см. рис. 2, б), т.е. образование СК идет одновременно с двух концов и заканчивается в центральной части бивалента. У *Ch. schmidti* в ранней зиготене районы формирования СК обнаруживаются в два раза меньшем количестве, чем у *A. fusca*. По морфологии они могут быть идентифицированы как дистальные районы бивалентов. Проксимальные

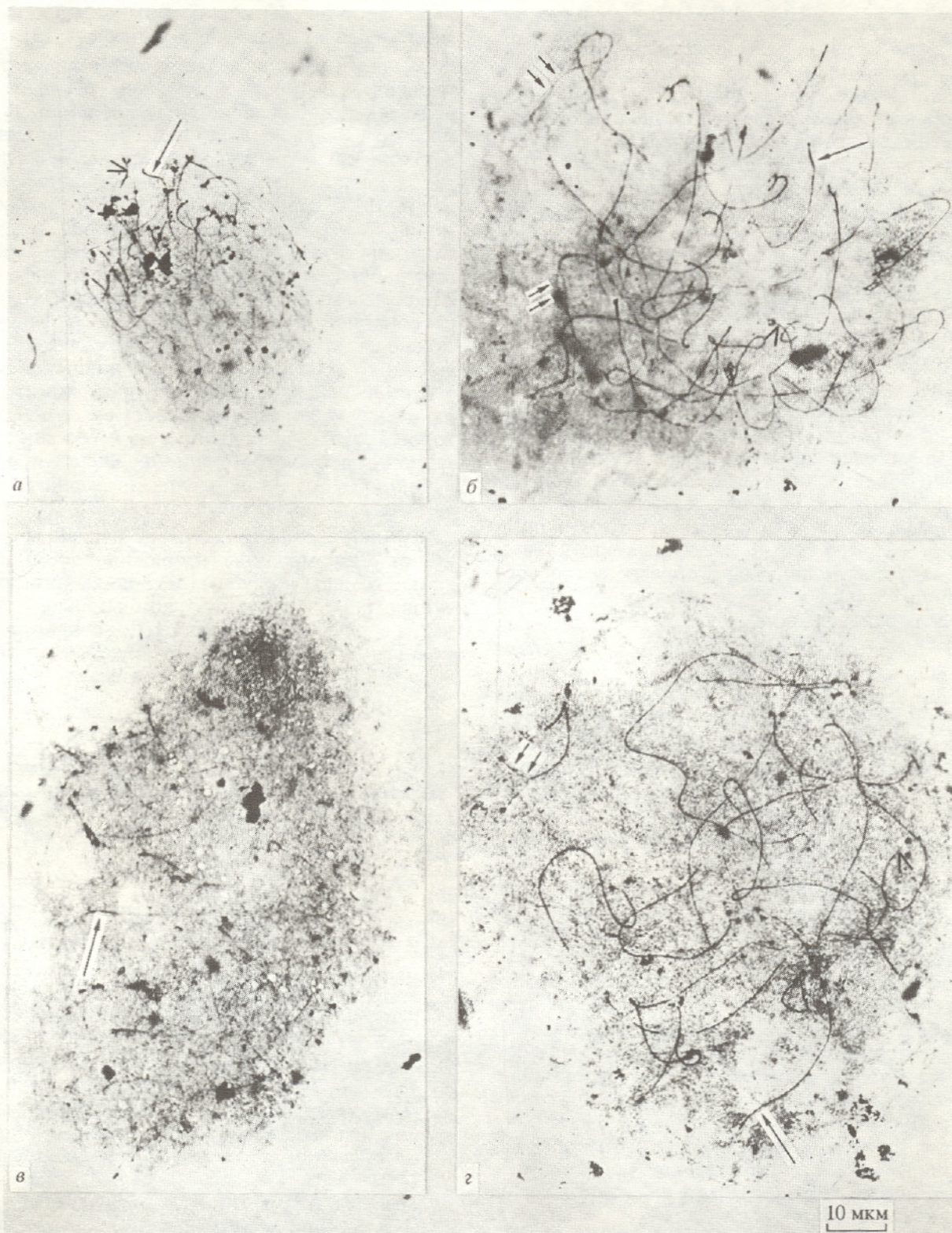


Рис. 2. Синаптонемные комплексы в распластанных сперматоцитах *A. fusca* (а – зиготена, б – поздняя зиготена) и *Ch. schmidti* (в – зиготена, г – пахитена). Короткой стрелкой отмечены проксимальные районы бивалентов, длинной – дистальные. Двойная стрелка указывает на неспаренные районы бивалентов.

районы хромосом на этой стадии вообще не выявляются (см. рис. 2, в).

В пахитене СК у *A. fusca* сформирован по всей длине бивалентов, а у *Ch. schmidti* небольшие уча-

стки проксимальных районов хромосом остаются неспаренными (см. рис. 2, г). Суммарные длины СК у изученных видов достоверно не различаются: у *Ch. schmidti* 732 ± 53 мкм и у *A. fusca* 683 ± 43 мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, описанные виды характеризуются различным типом формирования СК. У *A. fusca* конъюгация хромосом и, следовательно, образование СК начинаются одновременно в проксимальных и дистальных районах хромосом, тогда как у *Ch. schmidti* — только в дистальных районах. Можно ожидать, что сходный тип формирования СК наблюдается и у других представителей соответствующих триб, что и определяет характерную для трибы картину распределения хиазм.

Среди саранчовых наблюдаются виды со случайным (равномерным) и неслучайным распределением хиазм. Крайним вариантом последнего являются “локализованные” хиазмы.

Проксимально локализованные хиазмы описаны у *Stethophyma grossum* (*Mecostetus grossus*) [6] и у представителей трибы *Bryodemini* [1]. Дистально локализованные обмены характерны для бивалентов, образованных субметацентриками, у *Chloealtis conspersa*, *Chrysochraon dispar* и *Euthystira brachyptera* [8, 10, 11]. У этих видов СК не формируется полностью, а образуется, соответственно, только в проксимальных [6] или дистальных районах хромосом [8, 12].

В том случае, когда СК формируется по всей длине бивалентов, у одних видов реализуется более или менее равномерное распределение обменов, как у *Locusta migratoria* [12], а у других наблюдается тенденция к увеличению частоты обменов в дистальных районах бивалентов (*Ch. schmidti*, *Ch. biguttulus*) или в дистальных и проксимальных районах (*A. fusca*).

Как видно из наших данных, район начала формирования СК играет решающую роль в смещении распределения хиазм в какую-либо сторону. Можно предполагать, что важна также степень завершенности СК к моменту начала кроссинговера. Так, если рекомбинация начинается после полного завершения конъюгации, то распределение обменов по длине хромосом будет практически равномерным. Если же кроссинговер начинается до того, как СК полностью сформирован, то большая частота хиазм будет наблюдаться в тех районах, которые конъюгируют первыми. В случае, когда образование СК идет с двух концов бивалента, кроссинговер на отрезках СК, формирующихся с разных сторон, происходит независимо. Частота хиазм при одинаковой физической длине СК у таких видов будет выше, чем у видов с однонаправленным формированием СК.

Следует отметить, что двухпиковые распределения обменов, которые мы наблюдаем в трибе *Arcypterini* и у *D. brevicollis*, сходны с описанными ранее распределениями хиазм в акроцентрических хромосомах [8, 11, 13]. Что же касается крупных и средних акроцентриков у представителей трибы *Gomphocerini*, то они демонстрируют тот же тип

распределения обменов, который обычно наблюдается в плечах двуплечих хромосом [8, 13].

В связи с этим выявляется интересная закономерность. В роде *Chorthippus* (*Gomphocerini*) подавляющее большинство видов имеет 17-хромосомные кариотипы, и во вступивших в Робертсоновскую транслокацию хромосомах наблюдается дистальный пик рекомбинационных обменов [8, 13]. У единственного известного на данный момент 23-хромосомного *Ch. schmidti* рекомбинационная активность также смещена в дистальный район. *Ae. variegatus* принадлежит к группе 23-хромосомных родов данной трибы, и его почти равномерное распределение хиазм, вероятно, можно считать исходным в ряду реализации тенденции к смещению рекомбинационных обменов в дистальный район. Можно предполагать, что изменение характера распределения обменов, которое ведет к увеличению рекомбинации в дистальных районах хромосом, предшествует вступлению хромосом в центрические слияния, а может быть, и предопределяет их.

В трибе *Arcypterini*, где все изученные виды имеют 23-хромосомный кариотип, рекомбинационные обмены в крупных и средних хромосомах концентрируются в дистальном и проксимальном районах хромосом, т.е. проксимальные районы этих видов активно рекомбинируют, что, вероятно, препятствует Робертсоновским слияниям.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Высоцкая Л.В., Бугров А.Г., Стебаев И.В. Частота хиазм как цитогенетический критерий эволюционных отношений в семействе *Acrididae* // Журн. общ. биол. 1983. Т. 44. № 4. С. 480 - 490.
2. Fontana P.G., Vickery V.R. Heterochromatin content and chiasma distribution in the megameric chromosome of *Stethophyma gracile* and *Stethophyma lineatum* (*Orthoptera: Acrididae*) // *Chromosoma*. 1974. V. 46. № 4. P. 375 - 396.
3. Высоцкая Л.В., Бугров А.Г. Сравнительно-кариологический анализ саранчовых трибы *Bryodemini* (*Orthoptera, Acrididae, Oedipodinae*) фауны СССР // Зоол. журн. 1987. Т. 66. Вып. 8. С. 1189 - 1195.
4. Southern D.J. Chiasma distribution in *Truxaline grasshoppers* // *Chromosoma*. 1963. V. 22. P. 161 - 191.
5. Hewitt G.M. Population cytology of British grasshoppers. 1. Chiasma variation in *Chorthippus brunneus*, *Chorthippus parallelus* and *Omocestus viridulus* // *Chromosoma*. 1964. V. 15. P. 212 - 230.
6. Fletcher H.I. Localised chiasma due to partial pairing: a 3D reconstruction of synaptonemal complexes in male *Stethophyma grossum* // *Chromosoma*. 1978. V. 65. P. 247 - 269.
7. Bernelot-Moens C., Moens P.B. Recombination nodules and chiasma localisation in two *Orthoptera* (*Locusta migratoria* and *Chloealtis conspersa*) // *Chromosoma*. 1986. V. 93. P. 220 - 226.
8. Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Гусаченко А.М. Особенности образования синаптонемных ком-

- плексов и распределения хиазм у двух видов саранчовых // Генетика. 1990. Т. 26. № 11. С. 1953 - 1959.
9. Hewitt G.M. Animal cytogenetics. V. 3. Insecta. 1. Orthoptera. 1979.
 10. Бугров А.Г., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В. Карิโอотипы и С-гетерохроматические районы саранчовых трибы *Gomphocerini* (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) фауны СССР // Зоол. журн. 1991. Т. 70. Вып. 12. С. 55 - 63.
 11. Fletcher H.P., Hewitt G.M. A comparison of chiasma frequency and distribution between sexes in three species of grasshoppers // Chromosoma. 1980. V. 77. P. 129 - 144.
 12. Jones G.B., Stamford W.K., Perry P.E. Male and female meiosis in grasshoppers. II. *Chorthippus brunneus* // Chromosoma. 1975. V. 51. № 4. P. 381 - 390.
 13. Горлов И.П., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В. Цитогенетический анализ рекомбинационных взаимодействий // Генетика. 1983. Т. 29. № 2. С. 288 - 295.

Recombination Parameters in Some 23-Chromosome Species of Grasshoppers

A. M. Gusachenko, O. A. Agapova, and L. V. Vysotskaya

Department of Cytology and Genetics, Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia

The frequency and distribution of recombinational interchanges along the bivalent length in male meiosis were investigated by cytological methods in five species of grasshoppers with 23 acrocentric chromosomes and of different taxonomic groups. In two species, the mode of synaptonemal complex (SNC) formation was analyzed. This allowed to differentiation of two types of interchange distribution and SNC formation mode in large and medium chromosomes: (1) Chiasmata are formed predominantly in distal and proximal chromosome regions. SNC formation also starts from both ends of a bivalent. (2) The interchange frequency increases only in the distal chromosome region. Pairing of lateral SNC elements begins from the distal region. The influence of the mode of SNC formation on the type of interchange distribution is discussed. The similarity of these parameters in related species, as well as their differences in species having an equal chromosome number but belonging to different tribes, is emphasized.